РЕЗЮМЕ

Подобрана оптимальная питательная среда для выращивания возбудителя гемофилезного полисерозита свиней глубинным методом. Отработаны режимы культивирования и инактивации бактерий *Haemophilus parasuis* с целью получения антигена для инактивированных вакцин. Изготовлена инактивированная эмульсионная вакцина против гемофилезного полисерозита свиней, основные иммунобиологические свойства которой изучены на поросятах в лабораторных условиях.

SUMMARY

The optimal nutrient medium for cultivation of porcine *Haemophillus polyserositis* agent using an in-depth method was selected. Regimes for *H. parasuis* bacteria cultivation and inactivation aimed at antigen production for inactivated vaccines were evaluated. The inactivated emulsion vaccine against porcine *Haemophillus polyserositis* was produced and its main immunobiologic properties were studied in piglets under laboratory conditions.

Литература

1. Баснакьян, И.А. Культивирование микроорганизмов с заданными свойствами. М.: Медицина, 1992. 192 с.
2. Беккер, М.Е. Биотехнология / М.Е. Беккер, Г.К. Лиепиньш, Е.П. Райпулис. М.: Агропромиздат, 1990. С. 7-149.
3. Биохимические и антигенные свойства изолятов рода Haemophilus / О.В. Прунтова, В.С. Русалеев, В.М. Гневашев, О.И. Ручнова // Проблемы мониторинга и генодиагностики инфекционных болезней животных: матер. Междунар. науч. конф. молодых ученых. Владимир, 2004. С. 45-47.
4. Перт, С.Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. М.: Мир, 1978. 333 с.
5. Приходько, С.М. Гемофилезный полисерозит свиней (диагностика, профилактика): автореф. дис.… канд. биол. наук. / Приходько С.М. Щелково, 2003. 23 с.
6. Самуйленко, А.Я. Основы технологии производства ветеринарных биологических препаратов: в 2-х т. / А.Я. Самуйленко, Е.А. Рубан. М., 2000. Т.1. 375 с.
7. Сидоров, М.А. Гемофилезы животных / М.А. Сидоров, Д.И. Скородумов. М.: Агропромиздат, 1986. 176 с.
8. Kielstein, P. Designation of 15 serovars of Haemophilus parasuis on the basis of immunodiffusion using heat-stable antigen extracts / P. Kielstein, V.J. Rapp-Gabrielson //J. Clin. Microbiol. 1992. Vol. 30, №4. P. 862-865.
9. Phenotypic and genetic characterization of NAD-dependent Pasteurellaceae from the respiratory tract of pigs and their possible pathogenetic importance / P. Kielstein, H. Wuthe, O. Angen [et al.] // Vet. Microbiol. 2001. Vol. 81, №3. P. 243-255.

УДК 619:616.98:579.842.14:573.6.086.83:57.083.3

Ю.В. Капускина, О.В. Прунтова

ПОЛУЧЕНИЕ АНТИГЕНОВ БАКТЕРИЙ *SALMONELLA ENTERICA SUBSPECIES ENTERICA* И ГИПЕРИММУННЫХ СЫВОРОТОК К НИМ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Введение

Сальмонеллез – один из наиболее широко распространенных зооантропонозов во многих странах мира, в том числе и в России [3]. Патогенные сероварианты сальмонелл вызывают у людей и животных заболевания, характеризующиеся различными клиническими проявлениями. У людей они вызывают пищевые токсикоинфекции при употреблении инфицированных продуктов животного происхождения. У птиц весьма распространены латентные инфекции – сальмонеллоносительство [4].

Бактерии *Salmonella typhimurium (S. typhimurium)* и *Salmonella enteritidis (S. enteritidis)* являются возбудителями сальмонеллеза птиц, относящимися к роду *Salmonella* семейства *Enterobacteriaceae*. Идентифицировано более 2300 серотипов сальмонеллы, из которых только 10% было выделено у домашней птицы. Известно, что серотипами, наиболее часто выделяемыми от цыплят, а также людей являются *S. enteritidis* и *S. typhimurium* [3, 4].

В настоящее время в большинстве развитых стран разрабатываются программы мероприятий, направленные на улучшение ситуации по заболеваниям, вызываемым сальмонеллами, включающие своевременную и качественную диагностику. В связи с предстоящим вступлением России в ВТО особое внимание должно быть уделено мониторингу сальмонеллеза птиц.

Эта задача осложняется трудностями в идентификации штаммов и серотипов ввиду широкой вариабельности вирулентных и антигенных свойств возбудителя.

Поэтому для постановки окончатель-

ного диагноза необходимы лабораторные исследования, включающие традиционные методы ранней и ретроспективной диагностики, к которым относятся реакция агглютинации (РА) и реакция диффузной преципитации (РДП). Однако эти методы отличаются трудоемкостью и субъективностью в интерпретации результатов. Поэтому в настоящее время широкое распространение в диагностике получил иммуноферментный анализ (ИФА). Быстрота получения, воспроизводимость и автоматизированный учет результатов реакции, возможность стандартизации условий постановки анализа делают этот метод наиболее эффективным, удобным, экономичным и выгодным для массовых серологических исследований.

Некоторыми зарубежными коммерческими фирмами (IDEXX, BIOCHEK и др.) производятся комбинированные тест-системы на основе непрямого ИФА для определения антител к *S. typhimurium* и *S. enteritidis* в сыворотках крови. Но массовое применение этих наборов в России ограничено их высокой стоимостью, поэтому отечественная ветеринарная практика заинтересована в создании качественных и доступных по цене наборов для выявления антител к сальмонеллам иммуноферментным методом.

Наиболее специфичным компонентом бактериальной клетки грамотрицательных бактерий является липополисахаридный антиген, активность и специфичность которого зависят от метода получения [5]. При сравнительной оценке активности сальмонеллезных антигенов в ИФА наиболее высокий уровень специфичности регистрировали с антигеном, полученным методом фенольно-водной экстракции [5, 6].

Целью данной работы было получение специфических антигенных компонентов *S. typhimurium* и *S. enteritidis*, а также определение их активности и специфичности в непрямом варианте твердофазного ИФА.

Материалы и методы

При выполнении работы использовали следующие штаммы: *S. typhimurium* № 371 и *S. enteritidis* № 7, полученные из музея ВГНКИ, изоляты *S. typhimurium* «М-1» и «В-1», изоляты *S. enteritidis* № 42 и «Т-1», а также штаммы *Escherichia coli*: «ВК-3», №№ 606, 115, 1231; *Yersinia enterocolitica* штамм №39 и *Ornithobacterium rhinotraheale* штамм «К-33», полученные из музея ВГНКИ.

Получение антигенов. Для получения антигенов использовали 18-24-часовые культуры перечисленных выше штаммов и изолятов, выращенные на плотной питательной среде – мясопептонном агаре.

Липополисахаридный антиген получали методом фенольно-водной экстракции (5).

Соматический антиген (О-антиген) был получен по методикам, описанным Gunnarsson A. et al. [9].

Жгутиковый антиген (Н-антиген) получали по методу Robison H.F.et al.(10).

Формалинизированный антиген из цельных бактериальных клеток был получен по традиционной методике инактивации бактерий 0,2% формалинизированным буфером [6].

Определение количества белка в растворах антигенов проводили по методу M.M. Bredford, [8].

Получение гипериммунных сывороток. Для получения гипериммунных сывороток крови использовали кур породы «Хайсекс коричневый», 30-дневного возраста. 1-ю группу кур иммунизировали формалинизированным антигеном из цельных бактериальных клеток *S. typhimurium*, 2-ю – аналогичным антигеном *S. enteritidis*. Сыворотки крови получали путем двукратного внутримышечного (с интервалом в две недели) введения антигенов в дозе 10 млрд м.к./см^3 в объеме 0,7 мл, смешанных в равном количестве с масляным адьювантом типа неполного адьюванта Фрейнда. При титре антител в сыворотке крови в реакции агглютинации не менее 1:1600 птицу обескровливали.

Реакцию агглютинации и непрямой вариант твердофазного ИФА для определения антител в сыворотках крови кур проводили по традиционным методикам [1, 11].

Учет результатов ИФА проводили с помощью спектрофотометра с вертикальным лучом при длине волны 492 нм. Оценку результатов ИФА проводили по S/P отношению по формуле:

$$\mathbf{S/P = g_x - к^- / к^+ - к^-},$$ где

g_x – оптическая плотность испытуемой пробы сыворотки;

$к^+$ – оптическая плотность положительного контроля;

$к^-$ – оптическая плотность отрицательного контроля.

Статистическая обработка результатов. Для статистической обработки полученных данных были использованы методы, описанные Бейли Н. [2].

Результаты исследований

Из литературных данных известно, что антигенными свойствами у бактерий рода *Salmonella* обладают жгутики, липополисахарид клеточной стенки, а также белки

Таблица 1

Содержание белка в антигенах *S. typhimurium* штамм №371 и *S. enteritidis* штамм № 7

№	Антигены	Концентрация белка, мг/мл	
		S. typhimurium №371	***S. enteritidis №7***
1	Ф-АГ	61	68
2	ЛПС-АГ	5	4
3	О-АГ-HCl	67	61
4	О-АГ-100° С	60	59
5	Н-АГ	35	39

Ф-АГ – формалинизированный антиген;
ЛПС-АГ – липополисахаридный антиген;
О-АГ-HCl – соматический О-антиген, обработанный соляной кислотой;
О-АГ-100° С – прогретый О-антиген;
Н-АГ – жгутиковый антиген

Таблица 2

Активность антигенов *S. typhimurium* штамма № 371 и *S. enteritidis* штамма №7 с гомо- и гетерологичными сыворотками в реакции агглютинации на стекле

№	Сыворотки	Антигены					
		***S. typhimurium* №371**			***S. enteritidis* №7**		
		ЛПС	О-АГ-HCl	О-АГ-100° С	ЛПС	О-АГ-HCl	О-АГ-100° С
1	***S. typhimurium № 371***	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+	+ + +	+
2	***S. typhimurium «M-1»***	+ +	+ + + +	+ +	+	+	+
3	***S. typhimurium «B-1»***	+ + +	+ + + +	+ +	+	+ +	+ +
4	***S. enteritidis №42***	+	-	+ +	+ +	+ + + +	+ + +
5	***S. enteritidis №7***	+	+ + +	+ +	+ + + +	+ + + +	+ + + +
6	***S. enteritidis «T-1»***	+	+ +	+	+ +	+ + + +	+ + +
7	***O. rhinotraheale«K-33»***	-	-	-	-	-	-
8	***E. coli «BK-3»***	-	+ + + +	-	-	-	+
9	***E. coli № 606***	-	-	-	-	-	-
10	***E. coli № 115***	-	+ + + +	+	-	+ +	-
11	***Y. enterocolitica № 39***	-	+	+	-	+ + +	-

ЛПС-АГ – липополисахаридный антиген;
О-АГ-HCl – соматический О-антиген, обработанный соляной кислотой;
О-АГ-100° С – прогретый О-антиген

наружной мембраны [4].

Нами были получены следующие антигены штаммов *S. typhimurium* № 371 и *S. enteritidis* № 7, а также изолятов *S. typhimurium* «М-1» и «В-1», и *S. enteritidis* № 42 и «Т-1»:

- формалинизированные цельноклеточные (Ф-АГ);
- соматические, обработанные соляной кислотой (О-АГ-HCl);
- соматические, прогретые при 100° С (О-АГ-100° С);
- липополисахаридные (ЛПС-АГ);
- жгутиковые (Н-АГ).

На них были получены гипериммунные сыворотки кур. Кроме того, были получены формалинизированные цельноклеточные антигены и гипериммунные к ним сыворотки штаммов *Escherichia coli*: «ВК-3», №№ 606, 115, 1231, Y*ersinia enterocolitica* штамм № 39 и *Ornitobacteria rhinotraheale* штамм «К-33».

Необходимо отметить, что антигены, полученные с использованием различных методов, содержат разное количество белка, что может оказывать влияние на результаты серологических реакций. Поэтому на следующем этапе работы необходимо было определить содержание белка в полученных антигенах по методу Bredford M.M. [8]. Результаты представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, содержание белка в Ф-АГ, О-АГ-HCl и О-АГ-100 оС было примерно равным и находилось в пределах от 59 до 68 мг/мл. Такая закономерность прослеживалась у обоих штаммов. В Н-АГ содержалось вдвое меньшее количество белка – 35 мг/мл для штамма № 371 и 39 мг/мл для штамма № 7. В липополисахаридных антигенах, как и предполагалось, белок содержался в небольшом количестве, что свидетельствовало о хорошей степени очистки данных препаратов.

Оценку активности полученных антигенов с гомо- и гетерологичными сыворотками первоначально проводили в качественной РА на стекле. Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 3

Активность гипериммунных сальмонеллезных сывороток крови кур с формализированными антигенами по данным количественной РА

№	Сыворотки	Антигены									
		S. typhimurium			***S. enteritidis***			***E. coli***		***O.rhino-traheale* №33**	***Y.entero-colitica* №39**
		№371	«М-1»	«В-1»	№7	№42	№371	«М-1»	«В-1»		
1	№371	1600	200	400	50	100	1600	200	400	50	100
2	«М-1»	400	1600	200	50	50	400	1600	200	50	50
3	«В-1»	400	400	1600	50	-	400	400	1600	50	-
4	№7	50	100	100	1600	800	50	100	100	1600	800
5	№42	50	100	200	200	1600	50	100	200	200	1600
6	«Т-1»	50	200	200	400	200	50	200	200	400	200
7	Положит. контроль*	>1600	>1600	>1600	>1600	>1600	>1600	>1600	>1600	>1600	>1600
8	Отрицат. контроль**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Сыворотки:
№ 371 – против штамма *S. typhimurium* № 371;
«М-1» – против изолята *S. typhimurium* «М-1»;
«В-1» – против изолята *S. typhimurium* «В-1»;
№ 7 – против штамма *S. enteritidis* № 7;
№ 42 – против изолята *S. enteritidis* № 42;
«Т-1» – против изолята *S. enteritidis* «Т-1»
* – в качестве положительного контроля использовали сыворотки кур, гипериммунизированных соответствующим антигеном;
** – в качестве отрицательного контроля использовали нормальную куриную сыворотку

Из данных табл. 2 следует, что соматический О-антиген, обработанный соляной кислотой, и прогретый О-антиген штамма *S. typhimurium* № 371 были активны не только в реакции с сыворотками, специфичными изолятам и штаммам *Salmonella*, но и с гетерологичными сыворотками, полученными на штаммы *E. coli* «ВК-3» и № 115. В свою очередь, ЛПС антиген № 371 был активен с сыворотками, специфичными *S. typhimurium* изолятов «М-1» и «В-1», причем с гомологичной сывороткой был более активен (+ + + +). Как ожидалось, все антигены *S. typhimurium* положительно реагировали и с сыворотками, специфичными *S. enteritidis*, и наоборот. Это объясняется наличием у *S. enteritidis* и *S. typhimurium* двух общих соматических антигенов (О-1 и О-12).

Так как нашей последующей задачей было создание комбинированного набора, состоящего из двух видов антигенов для постановки диагноза на сальмонеллез птиц, который могут вызывать штаммы *S. enteritidis* и *S. typhimurium*, перекрестные реакции между ними допустимы.

При исследовании антигенов из штамма *S. enteritidis* № 7 выяснилось, что подобно О-АГ-HCl и О-АГ-100° С из штамма *S. typhimurium* № 371, О-АГ-HCl и О-АГ-100° С, приготовленные из *S. enteritidis* № 7, в разной степени реагировали с гетерологичными сыворотками *E. coli* («ВК-3» и № 115). ЛПС антиген был активен с сыворотками, специфичными *S. enteritidis*, а также в небольшой степени (+) с сыворотками, полученными на *S. typhimurium*.

Оценку гипериммунных сывороток кур проводили в количественной РА с формалинизированными антигенами в полистироловых планшетах. По результатам этой реакции специфичными были гипериммунные сыворотки крови, полученные на антигены *S. typhimurium* № 371 и *S. enteritidis* № 7 (табл. 3).

На основании полученных результатов два липополисахаридных антигена – *S. typhimurium* №371 и *S. enteritidis* №7 – были отобраны для оценки активности специфических сывороток в непрямом варианте твердофазного ИФА.

Сыворотки тестировали в разведении 1:400, так как в этом разведении наблюдали наибольшую разницу между значениями оптической плотности отрицательного и положительного контролей.

Для интерпретации результатов реакции необходимо было установить позитивно – негативный порог (ПНП). Для его определения тестировали 100 заведомо отрицательных сывороток кур в разведении 1:400, ранее исследованных в коммерческом наборе «BIOCHEK (S.ent/thyph.)» (Голландия). ПНП опре-

Таблица 4

Специфичность гипериммунных сальмонеллезных сывороток крови кур с ЛПС антигенами в ИФА

№	Сыворотки	Оценка результатов ИФА (S/P)			
		***S. typhimurium* № 371**		***S. enteritidis* № 7**	
		S/P	**оценка**	**S/P**	**оценка**
1	№371	0,91	P*	0,21	S
2	«М-1»	0,41	P	0,23	S
3	«В-1»	0,51	P	0,21	S
4	№7	0,23	S**	0,98	P
5	№42	0,26	S	0,47	P
6	«Т-1»	0,21	S	0,32	P
7	*E. coli* «ВК-3»	0,12	N***	0,11	N
8	*Enterococcus avium*	0,09	N	0,05	N
9	*O. rhinotraheale* №33	0,16	N	0,13	N
10	*Y.enterocolitica* №39	0,10	N	0,15	N
11	*Mycoplasma sinovia*	0,14	N	0,11	N

Сыворотки:
№ 371 - против штамма *S. typhimurium* № 371;
«М-1» - против изолята *S. typhimurium* «М-1»;
«В-1» - против изолята *S. typhimurium* «В-1»;
№ 7 - против штамма *S. enteritidis* №7;
№ 42 - против изолята *S. enteritidis* №42;
«Т-1» - против изолята *S. enteritidis* «Т-1»;
*P - положительная сыворотка;
** S - сомнительная сыворотка;
*** N - отрицательная сыворотка

деляли, рассчитывая средние значения S/P отрицательных сывороток, прибавляя три значения стандартного отклонения (для расчета верхней границы ПНП) и два значения стандартного отклонения (для расчета нижней границы ПНП). Значения S/P, лежащие в диапазоне между нижней и верхней границей ПНП, считали сомнительными. Получили среднее значение S/P отрицательных сывороток, равное 0,099, и стандартное отклонение 0,068343.

На основании проведенного статистического анализа результат считали отрицательным, если отношение S/P ≤0,2; если отношение S/P≥0,3 – пробу считали положительной, промежуточные значения считали сомнительными.

Для оценки гипериммунных сывороток, полученных на цельные антигены, их активность проверяли в ИФА с ЛПС антигенами. Результаты опыта представлены в табл. 4.

Как видно из табл. 4, при использовании ЛПС антигенов гомологичные к ним сыворотки по S/P отношению являются положительными, а гетерологичные – отрицательными.

Таким образом, липополисахаридные антигены *S. typhimurium* № 371 и *S. enteritidis* № 7 являются видоспецифичными и могут быть использованы в ИФА для выявления антител к возбудителям сальмонеллеза птиц.

Выводы

Проведенные исследования показали, что липополисахаридные антигены S. typhimurium № 371 и S. enteritidis № 7 являются видоспецифичными как в РА, так и в ИФА.

Гипериммунные сыворотки, полученные на цельные антигены *S. typhimurium* № 371 и *S. enteritidis* № 7, по S/P отношению являются положительными в ИФА с ЛПС антигенами. Таким образом, полученные липополисахаридные антигены бактерий *S. typhimurium* и *S. enteritidis*, могут быть использованы в целях создания комбинированного набора для выявления антител к сальмонеллезу птиц.

РЕЗЮМЕ

В статье представлены результаты получения и оценки активности и специфичности антигенов *Salmonella typhimurium* и *Salmonella enteritidis*, а также гипериммунных сывороток для иммуноферментного анализа.

SUMMARY

Results of preparation and assessment of activity and specificity of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* antigens as well as hyperimmune sera for ELISA are presented in the paper.

Литература

1. Антитела. Методы : пер с англ./ под ред. Д. Кетти. В 2-х кн. М.: Мир, 1991.
2. Бейли, Н. Математика в медицине и биологии / Н. Бейли. М.: Мир, 1970. 326 с.
3. Болезни домашних и сельскохозяйственных птиц / пер с англ.; под ред. Б.У. Кэлнека. М.: Аквариум Бук, 2003. С. 101-119.
4. Бухарин, О.В. Сальмонеллы и сальмонеллезы / О.В. Бухарин, Ю.Д. Каган, А.Л. Бурмистрова. Екатеринбург: УрО РАН, 2000. 257с.
5. Егоров, А.М. Теория и практика иммуноферментного анализа / А.М. Егоров, А.П. Олепов, Е.М. Гаврилева. М.:Высш. шк., 1991. 288 с.
6. Книрель, Ю.А. Строение липополисахаридов грамотрицательных бактерий. Структура О-специфических полисахаридов / Ю.А. Книрель, Н.К. Кочетков// Биохимия. 1994. Т.59, №12. С. 1784-1851.
7. Aman, A.J. Salmonella in domestic animals / A.J. Aman // J. Immunol. Methods. 1997. Vol.17. P.365.
8. Bredford, M.M. Determination of antigen specificity an indirect ELISA / M.M. Bredford // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72. P.248-254.
9. Gunnarsson, A. Serologic studies on porcine strain: agglutination reactions / A. Gunnarsson, E.L. Biberstein, B. Hurvell // Am.J. Vet.Res. 1977. Vol. 38, №8. P.1111-1114.
10. Robison, H.F. Microbial diseas / H.F. Robison // Anal. Biochem. 1983. Vol. 64. P.210-214.

УДК 619.615.371

С.Ю. Белов, О.Е. Селина, А.С. Каталымов, О.В. Зиновьева

(ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии (ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии), Покров, Владимирская область; Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (г. Москва, Россия))

МИКРОКАПСУЛИРОВАНИЕ ДНК И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ВИРУСОЛОГИИ

Введение

Микрокапсулирование биологически активных веществ для различных целей в фармацевтической, химической и пищевой промышленности, так же как в сельском хозяйстве, медицине, является актуальным направлением исследований в биотехнологии. Это обусловлено тем, что заключенные в микрокапсулы вещества, а именно лекарственные средства, такие, как антибиотики, ферменты, химиотерапевтические средства, остаются надолго защищенными от внешнего воздействия, тем самым сохраняя свои полезные свойства.

В современной биотехнологии разрабатываются различные способы доставки генетического материала в цитоплазму клетки. J. R. B.Clark и J. March [3] считают перспективным направлением использование бактериофага. Другой путь повысить эффективность адресной доставки биоматериала заключается в применении микрокапсул. Работы, посвященные микрокапсулированию генетического материала (ДНК), пока являются пионерскими. Иммобилизация ДНК в виде микрокапсул дает следующие возможности: 1) позволяет увеличить количество доставляемой в клетку ДНК; 2) легко иммобилизовать специфические лиганды, обеспечивая таким образом их взаимодействие с клеточными рецепторами; 3) использовать несколько ДНК-плазмид или ДНК с белком; 4) защитить ДНК от расщепления нуклеазами. В доступной литературе известно несколько работ, непосредственно касающихся этого вопроса. Так, M. E. Johnson, S. Mossman, T. Cecil, L. Evans [4] заключали ДНК в биосовместимые микросферы, образованные полимерами, позволяющие сохранять ДНК в суперколлоидной форме. Эффективность этого метода микрокасулирования составляла 50%. При попадании их в клетки при инокуляции мышам микрокапсулы деградировали с последующим высвобождением нуклеиновой кислоты. В дальнейших исследованиях была показана высокая эффективность микрокапсулирования при совместном заключении в микросферы ДНК и адъюванта для иммунизации мышей. Разработанный метод микрокапсулирования ДНК авторы предлагают использовать при разработке ДНК-вакцин.

H. Cai с соавторами разрабатывают новую стратегию вакцинации против туберкулеза, применяя биодеградируемые микросферы, содержащие ДНК, кодирующую антигены микобактерий. Учитывая актуальность данного направления в области биотехнологии, цель исследова-